

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

CURSO DE FISIOTERAPIA

JULIANA MELLER

**ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM PACIENTES PORTADORES DE DISTROFIAS
MUSCULARES PROGRESSIVAS**

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2010

JULIANA MELER

**ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM PACIENTES PORTADORES DE DISTROFIAS
MUSCULARES PROGRESSIVAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, para a
obtenção do grau de Bacharel no curso de
Fisioterapia da Universidade do Extremo Sul
Catarinense, UNESC.

Orientadora: Prof. (ª) Drª. Lisiane Tuon
Generoso Bittencourt

Co-orientadora: Gisiane Bareta de Mathia

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2010

JULIANA MELER

**ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM PACIENTES PORTADORES DE DISTROFIAS
MUSCULARES PROGRESSIVAS**

Criciúma, 22 de novembro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Lisiane Tuon Generoso Bittencourt – Orientador

Franciani Rodrigues

Prof. Dr. Tiago Petrucci de Freitas

Dedico este trabalho aos meus pais, razões da minha vida. Obrigada pelo respeito, amor e dedicação.

SUMÁRIO

Capítulo I: Projeto de Pesquisa.....	5
Capítulo II: Artigo Científico	30
Capítulo III: Normas da Revista.....	43

Capítulo I: Projeto de Pesquisa

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

CURSO DE FISIOTERAPIA

JULIANA MELLER

**ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM PACIENTES PORTADORES DE DISTROFIAS
MUSCULARES PROGRESSIVAS**

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2009

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

CURSO DE FISIOTERAPIA

JULIANA MELLER

**ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO
CÉREBRO (BDNF) EM PACIENTES PORTADORES DE DISTROFIAS
MUSCULARES PROGRESSIVAS**

Projeto apresentado ao Comitê de Ética-
CEP/UNESC com vistas a sua aprovação.

Pesquisador Responsável: Prof. (a) Dr^a. Lisiane
Tuon Generoso Bittencourt

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2009

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Cronograma	21
Tabela 2- Orçamento	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMP – Distrofias Musculares Progressivas

SNC – Sistema Nervos Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

ASCADIM – Associação Sul Catarinense de Amigos e Familiares dos Portadores de Distrofias Musculares Progressivas

DMD – Distrofia Muscular de Duchenne

DMS – Distrofia Miotônica de Steinert

DMC – Distrofia Muscular do tipo Cinturas

TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	26
APÊNDICE II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – Grupo Controle.....	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS.....	13
1.1.1 Objetivo geral	13
1.1.2 Objetivos específicos.....	13
1.2 JUSTIFICATIVA.....	13
2 CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Distrofias Musculares Progressivas.....	15
2.1.1 Distrofia Muscular de Duchenne.....	15
2.1.2 Distrofia Miotônica de Steinert.....	17
2.1.3 Distrofia Muscular de Cinturas	17
2.2 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)	18
3 MATERIAIS DE MÉTODOS.....	19
3.1 Caracterização da Pesquisa	19
3.2 Caracterização da Amostra	19
3.3 Procedimentos para Coleta	19
3.4 Instrumentos para Coleta de Dados	20
3.5 Procedimentos para Análise de Dados	20
4 CRONOGRAMA	21
5 ORÇAMENTO	21
REFERÊNCIAS.....	22
APÊNDICE.....	25

1 INTRODUÇÃO

As Distrofias Musculares Progressivas (DMP) são um grupo de doenças genéticas que se caracterizam por fraqueza muscular progressiva decorrente da degeneração irreversível do tecido muscular esquelético. Estas diferem entre si quanto ao tipo de musculatura atingida, à forma de herança, à idade de início e instalação dos sinais e sintomas, e ao quadro evolutivo (OTSUKA *et al.*, 2005).

Os Fatores Neurotróficos são polipeptídeos solúveis, os quais atuam na sobrevivência, diferenciação e manutenção do Sistema Nervoso Central (SNC) e do Sistema Nervoso Periférico (SNP) (DA SILVA, 1995; TERENGHI, 1999; RICHARDSON *et al.*, 1999).

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) apóia a expansão dos axônios dos neurônios da dopamina e da acetilcolina. Níveis mais altos de atividade neuronal estimulam a liberação de BDNF. Em alguns estudos, foi evidenciado que ratos com deficiência na produção de BDNF morrem em poucas semanas, e os animais que vivem em ambientes de estresse alto, apresentam níveis mais baixos desse fator (FREY, 2006; OBATA, 2006).

Baseado no que foi descrito anteriormente formulou-se a seguinte questão problema da pesquisa: **Os portadores de Distrofias Musculares Progressivas apresentam alteração nos níveis de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)?**

Para melhor direcionar o problema exposto, aponta-se a seguinte questão a investigar:

1. Portadores de Distrofias Musculares Progressivas apresentam alterações nos níveis séricos de Fator Neurotrófico Derivado de Cérebro (BDNF) quando comparados com indivíduos não portadores da doença?

Mediante a questão norteadora identificada acima, apresenta-se a seguinte hipótese:

1. Tem-se estudado a relação dos Fatores Neurotróficos com a regulação dos mecanismos moleculares que permitem a supervivência e diferenciação de células neuronais específicas durante o desenvolvimento embrionário. Evidências experimentais demonstram alterações fisiológicas das neurotrofinas na vida adulta de um neurônio, entre as quais destacam seu papel na plasticidade neuronal, na manutenção da memória, na estimulação da síntese e na liberação de neurotransmissores, e como um mecanismo de proteção neuronal antes do dano degenerativo, que inclui o restabelecimento dos axônios e seus dendritos na manutenção da homeostase celular (CAMACHO, 1997; ZAMPIERI, 2006). Em estudo realizado em modelo animal de Distrofia Muscular de Duchenne (camundongos *mdx*) foi observado um decréscimo dos níveis de BDNF no estriado dos animais estudados em relação a animais controle (COMIM *et al.*, 2009). Por isso, acredita-se que portadores de Distrofias Musculares Progressivas possuem níveis diferentes de Fatores Neurotróficos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Analisar os níveis de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) em portadores de Distrofias Musculares Progressivas membros da Associação Sul Catarinense de Amigos e Familiares dos Portadores de Distrofias Musculares Progressivas – ASCADIM e comparar com o grupo controle.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Descrever o perfil epidemiológico dos portadores de Distrofias Musculares Progressivas membros da ASCADIM.
- Determinar o nível sérico do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e comparar com grupo controle.

1.2 JUSTIFICATIVA

A grande importância que se atribui à análise do BDNF deve-se pelo fato de não existir publicações e estudos referentes a esse tema em pacientes portadores de Distrofias Musculares Progressivas.

Além disso, a Associação Sul Catarinense de Amigos e Familiares dos Portadores de Distrofias Musculares Progressivas – ASCADIM vem se destacando em Santa Catarina como pioneira em estudos envolvendo indivíduos com Distrofias Musculares Progressivas.

2 CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA

2.1 Distrofias Musculares Progressivas

As Distrofias Musculares Progressivas são grupos heterogêneos de doenças determinadas geneticamente, caracterizadas pela degeneração progressiva da musculatura esquelética. A apresentação clínica destas doenças varia tanto no que diz respeito à musculatura envolvida, complicações cardiopulmonares, idade de início dos sintomas, velocidade de progressão e modo de herança da doença (SCHARA, 2005; ANSVED, 2003; BICHOFF, ENGEL e FRANZINI-ARMSTRONG, 1991).

Existem mais de 30 formas de DMP, contudo as mais comuns são: Distrofia Muscular de Duchenne, Distrofia Muscular de Becker, Distrofia Muscular de Cinturas, Distrofia Miotônica de Steinert e Distrofia Fascioescapuloumeral (EL-BHOY, 2005; MARQUES, 2004).

2.1.1 Distrofia Muscular de Duchenne

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) foi descrita pela primeira vez no século XIX, década de 60, por Guillaume Duchenne (STOKES, 2000). É a doença muscular degenerativa mais comum ligada ao sexo, manifestando-se unicamente em meninos, independente de origem étnica e racial, com alta taxa de mutação do gene localizado no braço curto do cromossomo X (ARAÚJO, 2004). Sua incidência é de 1 a cada 3.500 nascidos vivos (RUBIN e FARBER, 2002; ROWLAND, 2002 e STOKES, 2000).

Na DMD há ausência de distrofina que é uma proteína do citoesqueleto da membrana da célula muscular que está ligada a um complexo glicoprotéico chamado complexo glicoproteico ligado à distrofina (KOENING *et al.*, 1987). Essa deficiência aumenta a permeabilidade da membrana celular e naturalmente aumento do influxo de cálcio para o interior da célula (HOFFMAN, 1987). O aumento da concentração de cálcio intracelular pode aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio pela mitocôndria em modelo animal de DMD (NETHERY, 2000). O estresse oxidativo vem sendo reconhecido como possível mecanismo causador da

degeneração muscular em modelo animal de DMD (RAGUSA *et al.*, 1997; RANDO, 2002).

A confirmação do diagnóstico de DMD é realizado através de testes bioquímicos do sangue que apontará as concentrações da enzima sérica creatina quinase (CK), da biópsia muscular, por histórico familiar e pela apresentação dos sinais clínicos (CARAKUSHANSKY, 2001; ARAUJO *et al.*, 2005).

Os primeiros sinais e sintomas clínicos se manifestam, em média, entre os 3 e 5 anos de idade. O portador apresenta um atraso para sentar-se, ficar em pé, caminhar, correr, saltar e sofre quedas frequentes (STOKES, 2000, OTSUKA *et al.*, 2005; TECKLIN, 2002, MOURA *et al.*, 2002). Além disso, evidencia-se uma hipertrofia dos músculos da panturrilha, que em seguida evolui para uma pseudo-hipertrofia, sendo estes músculos substituídos por tecido adiposo e conjuntivo. A atrofia da musculatura extensora do quadril e do joelho resulta em dificuldade de levantar-se do chão, sendo que para realizar este movimento a criança precisa auxiliar a extensão do quadril e do joelho, empurrando sua coxa com a mão ou com o antebraço e, conforme a atrofia progride a criança firma os membros inferiores usando ambos os membros superiores. Esta Manobra é conhecida como Sinal de Gowers (OTSUKA *et al.*, 2005; STOKES, 2000; TECKLIN, 2002; RATLIFFE, 2002; UMPHRED, 2004; MOURA *et al.*, 2002).

A marcha anormal, do tipo “bamboleante”, deve-se à atrofia precoce dos músculos abdutores do quadril, sendo assim, a criança é incapaz de nivelar a pelve ao erguer um membro inferior do chão inclinando-se na direção do outro membro inferior para assim, alterar o centro da gravidade do corpo para aquele membro em contato com o chão, sendo esta manobra conhecida como sinal de Trendelenburg. Este sinal é acompanhado por alargamento da base de sustentação para aumentar a estabilidade, favorecendo o surgimento das contraturas de abdução do quadril (OTSUKA *et al.*, 2005; STOKES, 2000; TECKLIN, 2002; RATLIFFE, 2002; UMPHRED, 2004; MOURA *et al.*, 2002). Quando a criança atinge os 7 e 8 anos de idade, as contraturas tendíneas do calcâneo e da banda iliotibial levam a realização de uma marcha sobre as pontas dos pés (TORRICELLI, 2004; REED, 2002; SCHARA, 2005).

Os pacientes perdem a capacidade da marcha entre os 8 e 12 anos de idade. Após este evento, podem surgir deformidades na coluna vertebral e nos membros inferiores, há um maior comprometimento respiratório, o que interfere na

independência funcional e na sobrevivência deste paciente (MELO 2005; EL-BOHY e WONG, 2005; MATSUO, 2006).

2.1.2 Distrofia Miotônica de Steinert

É considerada uma doença multissistêmica, pois atinge diferentes órgãos e sistemas, causando, além do comprometimento muscular, alterações cardíacas, pulmonares, oculares, ósseas, neurológicas, endócrinas e cutâneas (CHEBEL *et al.*, 2005).

Sua incidência é de aproximadamente 1 a cada 8.000 a 10.000 nascimentos. A DMS é uma das mais frequentes doenças causadas genes autossômicos dominantes (OTSUKA *et al.*, 2005; REED, 2002).

A característica principal deste tipo de Distrofia Muscular é a dificuldade no relaxamento muscular em seguida à contração vigorosa, chamado fenômeno miotônico (TORRICELLI, 2004; EL-BOHY e WONG, 2005).

A idade de instalação dos sintomas (desde o nascimento até mais de 60 anos) e a velocidade de evolução da doença são muito variáveis (OTSUKA *et al.*, 2005; MATSUO, 2006).

2.1.3 Distrofia Muscular de Cinturas

A DMC classifica-se pelo mecanismo de herança, sendo que a herança autossômica dominante equivale a 10% dos casos, e a herança autossômica recessiva, que constituem um grupo heterogêneo de doenças neuromusculares constitui 90% dos casos diagnosticados (SCHARA, 2005; TORRICELLI, 2004).

A doença pode se manifestar antes dos 10 anos de idade, no entanto é mais comum os sintomas surgirem na 2ª ou 3ª década, atingindo ambos os sexos. Apesar de o quadro clínico ser muito semelhante ao da DMD, a progressão é extremamente variável, mas normalmente é mais lenta, de forma contínua ou insidiosa, isto é, com períodos de rápida progressão alternados com períodos estacionários (EL-BOHY, 2005).

2.2 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)

Os fatores neurotróficos apresentam relação na regulação dos mecanismos moleculares que permitem a supervivência e diferenciação de células neuronais específicas durante o desenvolvimento embrionário. Nos últimos anos foi encontrado evidências experimentais que comprovam as alterações fisiológicas das neurotrofinas na vida adulta de um neurônio, entre as quais destaca seu papel na plasticidade neuronal, na manutenção da memória, na estimulação da síntese e na liberação de neurotransmissores e neuropépticos, e como um mecanismo de proteção neuronal antes do dano degenerativo, que compreende o restabelecimento dos axônios e seus dendritos na manutenção da homeostase celular (CAMACHO, 1997, ZAMPIERI, 2006).

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF, da sigla em inglês) é requerido para a diferenciação e a sobrevivência de subpopulações neuronais específicas tanto no Sistema Nervoso Central (SNC) quanto no Sistema Nervoso Periférico (SNP) (KALB, 2005; FREY, 2006; WOSZCZYCKA, 2006).

O BDNF apóia a expansão dos axônios dos neurônios da dopamina e da acetilcolina. Níveis mais altos de atividade neuronal estimulam a liberação de BDNF. Alguns estudos demonstram que ratos com deficiência na produção do BDNF morreram em poucas semanas e os animais que estão vivendo em ambientes de alto estresse produzem níveis mais baixos desse fator (FREY, 2006; OBATA, 2006).

Em estudo realizado em modelo animal de DMD (*mdx mouse*) constatou-se um decréscimo dos níveis de BDNF no estriado dos animais estudados em relação a animais controle (COMIM *et al.*, 2009).

3 MATERIAIS DE MÉTODOS

3.1 Caracterização da Pesquisa

Estudo de caso-controle.

3.2 Caracterização da Amostra

Participarão da pesquisa todos os pacientes, com diagnóstico de Distrofia Muscular Progressiva, integrantes da Associação Sul Catarinense de Amigos e Familiares dos Portadores de Distrofias Musculares Progressivas (ASCADIM).

O grupo controle será composto por voluntários saudáveis, sem qualquer tipo de doença neurológica prévia, pareados em relação aos indivíduos com Distrofias Musculares Progressivas quanto a sexo e idade recrutados dentre sujeitos oriundos da comunidade da região sul catarinense.

Como critérios de inclusão, pacientes portadores de Distrofias Musculares Progressivas, de ambos os sexos, sem patologias neurológicas conjuntas e participantes da ASCADIM. Os pacientes que não possuem diagnóstico de Distrofias Musculares Progressivas fazem parte do critério de exclusão.

3.3 Procedimentos para Coleta

Após o encaminhamento do projeto ao Comitê de Ética da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC e de sua aprovação, será solicitada uma autorização para o desenvolvimento do estudo à presidente da ASCADIM.

Os pacientes portadores de Distrofias Musculares Progressivas, ou seus representantes legais, e os participantes do grupo controle, que consentirem a participação no estudo, mediante a exposição dos objetivos, métodos, possíveis riscos e benefícios; serão convidados a assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE).

Após a assinatura do TCLE, será realizada uma coleta sanguínea (15 ml), por um técnico especializado, dos participantes da pesquisa.

Todas as informações e dados colhidos serão mantidos sigilosos e serão usados apenas para este estudo. As amostras serão numeradas para indicar

somente qual Distrofia Muscular Progressiva o paciente possui, sem qualquer modo de identificação do mesmo.

3.4 Instrumentos para Coleta de Dados

A coleta sanguínea será realizada por um técnico especializado no Complexo de Saúde da UNESC, e nos casos dos pacientes acamados e moradores de outras cidades, a pesquisadora e o técnico responsável se deslocarão até a residência do paciente para efetuar a coleta.

O técnico será protegido por luvas cirúrgicas descartáveis. Será coletado 15 ml de sangue venoso na veia cubital anterior com seringa e agulhas descartáveis esterilizadas com posterior tamponamento compressivo no local da punção. Todo o material biológico será desprezado seguindo-se as normas recomendadas com destino final correto.

O sangue será armazenado em tubo de ensaio com anticoagulante e devidamente identificado com o número do protocolo. Será centrifugado a 3000 g por 5 minutos e o soro armazenado em freezer a -80°C, no Laboratório de Neurociências (Neurolab) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

O BDNF será analisado pelo Kit ELISA Sanduíche (CUNHA *et al.*, 2006, FREY *et al.*, 2006).

3.5 Procedimentos para Análise de Dados

Os dados obtidos serão devidamente tabulados, analisados e avaliados por um programa estatístico SpSS 17.0 para Windows pelo *test-t de Student* para amostras pareadas. Após realizado os testes estatísticos, os dados serão transferidos para o Microsoft Excel para construção de gráficos e tabelas e assim, confrontados com a literatura científica.

4 CRONOGRAMA

2010

	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov
Escolha do Tema	X									
Elaboração do Projeto	X									
Entrega do Projeto	X									
Revisão da Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Coleta de Dados						X				
Análise dos Dados							X	X		
Entrega do Trabalho									X	
Apresentação										X

5 ORÇAMENTO

Discriminação	Quantidade	Valor Unitário R\$	Valor Total R\$
Materiais de Consumo			
ELISA Sanduíche	01	100,00	100,00
Folhas	01 resma	15,00	15,00
Tinta de impressora	01 cartucho	35,00	35,00
Total R\$			150,00

O projeto será financiado pela Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ.

REFERÊNCIAS

- ANSVED, Tor. Muscular Dystrophies: influence of physical conditioning on the disease evolution. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 6, p.435-439, 2003.
- ARAÚJO, Alexandra Prufer; *et al.* Diagnosis delay of Duchenne Muscular Dystrophy. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife v.4, n.2, Abr/jun. 2004.
- ARAÚJO, Alexandra Prufer; RAMOS, Vivianne Galante; CABELLO, Pedro Hernán. Spinal muscular atrophy diagnostic difficulties. **Arq. Neuropsiquiatr.**, vl.63, n.1, p.145-149, março/2005.
- BISCHOFF, R; ENGEL, A.G; FRANZINI-ARMSTRONG, C., **Myology**. New York: Mc Graw-Hill; 1991.
- CAMACHO, Miguel Asai. Neutrophins. **Salud Ment**, v. 20, p. 55-9, 1997.
- CARAKUSHANSKY, Gerson. **Doenças Genéticas em Pediatria**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- CHEBEL, S, *et al.* Cardiac involvement in Steinert's myotonic dystrophy. **Rev Neurol**, v.161, p.932-9, 2005.
- COMIM CM, TUON L, STERTZ L, VAINZOF M, KAPCZINSKI F, QUEVEDO JL. Striatum brain-derived neurotrophic factor levels are decreased in dystrophin-deficient mice. **Neuroscience Letters**; 459: p.66–68, 2009.
- CUNHA, A.B. ,FREY, B.N; ANDREAZZA A.C; GOI J.D; ROSA A.R.; GONÇALVES, C.A.; SANTIN, A; KAPCZINSKI, F. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes, **Neurosci. Lett**, v. 8, p.215–219, 2006.
- DA SILVA, C. Fatores Neurotróficos: estrutura, funções e aplicações clínicas. **Atual. Neuroc.**, 1: p.1-19, 1995.
- EL-BOHY AA, WONG BL. The diagnosis of muscular dystrophy. **Pediatr Ann**, v. 34, p.525-30, 2005
- FREY, B.N; ANDREAZZA, A.C.; CERESE, K.M.; MARTINS M.R.; VALVASSORI, S.S.; RÉUS, G.Z.; QUEVEDO, J.; KAPCZINSKI, F. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania, **Life Sci**, v. 13, p. 281–286, 2006.
- HOFFMAN EP, BROWN RH JR, KUNKEL LM . Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. **Cell**, v.51, p.919–928, 1987.
- KALB, R. The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and death of neurons. **Trends Neurosci**, v. 28, p.5-11, 2005.

KOENING M, HOFFMAN EP, BERTELSON CJ, MONACO AP, FEENER C, KUNKEL LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD, gene in normal and affected individuals. **Cell**, v. 50, p. 509-17, 1987.

MARQUES, M. J. Structural Biology oh the Dystrophin-Deficient Muscle Fiber. **Braz. J. Morphol. Sci**, v. 2, n. 21, p.145-152, 2004.

MATSUO M, TAKEDA S. Updates in muscular dystrophy research: from pathogenesis to therapeutic strategy. **No To Hattatsu**. v. 38, p.129-31, 2006.

MELO, ELA; VALDÉS, MTM; PINTO, JMS. Qualidade de vida de Crianças e Adolescentes com Distrofia Muscular de Duchenne. **Revista de Pediatria**, v. 27, n. 1, p.28-37, 2005.

MOURA, RCF; CUNHA, MCB; MONTEIRO, AP. Orientações Fisioterapêuticas motoras para pacientes portadores de Distrofia Muscular de Duchenne, na fase I. **Revista Fisioterapia Brasil**, vol. 3, n. 1, p.46-52, jan/fev 2002.

NETHERY D, CALLAHAN LA, STOFAN D, MATTERA R, DiMARCO A, SUPINSKI G. PLA2 dependence of diaphragm mitochondrial formation of reactive oxygen species. **J Appl Physiol**, v.89, p.72–80, 2000.

OBATA, K, NOGUCHI, K. BDNF in sensory neurons and chronic pain. **Neuroscience Research**, v. 55, p. 1-10, 2006.

OTSUKA, Márcia Akemi; BOFFA, Carla Fagundes B., VIEIRA, Ana Aletto M. **Distrofias Musculares. Fisioterapia Aplicada**. Editora Revinter, 2005.

RAGUZA, R.J.; CHOW, C.K.; PORTER, J.D. Oxidative Stress as a Potential Pathogenic Mechanism in an Animal Model of Duchenne Muscular Dystrophy. **Neuromuscular Disorder**, v. 7, p. 379-386, 1997.

RANDO TA . Oxidative stress and the pathogenesis of muscular dystrophies. **Am J PhysMed Rehabil**, v.81, p.175–186, 2002.

RATLIFFE, K. T. **Fisioterapia Clínica Pediátrica: Guia para a Equipe de fisioterapeutas**. São Paulo: Santos. 2002.

REED, UC. Doenças Neuromusculares. **Jornal de Pediatria**, v.78, supl. 1, p.89-103, 2002.

RICHARDSON, P. M. Neurotrophic factors in regeneration. **Curr. Op. Neurob**. v.1, p.401-406, 1991.

ROWLAND, Lewis P. **Merritt tratado de neurologia**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RUBIN, Emanuel; FARBER, John L. **Patologia**. 3ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SCHARA U, MORTIER W. Neuromuscular diseases 2: muscular dystrophies. **Nervenarzt**, v. 76, p. 238-9, 2005.

STOKES, Maria. **Neurologia para fisioterapeutas**. São Paulo: Premier, 2000.

TECKLIN, J. S. **Fisioterapia Pediátrica**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

TERENGHI, G. Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. **J. Anat.**, v.194: p.1-14, 1999.

TORRICELLI, R.E. Actualización em Distrofias Musculares. **Revista de Neurologia**, v. 39, p.841-960, 2004.

UMPHRED, Darcy A. **Reabilitação Neurológica**. 4º ed. São Paulo: Manole, 2004.

ZAMPIERI, N., CHAO MV. Mechanisms of neurotrophin receptor signalling. **Biochem Soc Trans** v. 34 p. 607-11, 2006.

WOSZCZYCKA-KORCZYNSKA I. Neutrophins in biology and medicine. **Pol Merkuriusz Lek**. v. 20, p.602-5, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE I
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA OS
INTEGRANTES DA ASCADIM

APÊNDICE I
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Esta é uma pesquisa que pretende analisar o dano celular que pode estar alterado nos indivíduos portadores de Distrofias Musculares Progressivas. Você que já é paciente da Associação Sul Catarinense de Amigos e Familiares dos Portadores de Distrofias Musculares Progressivas – ASCADIM, será convidado a participar, dessa pesquisa, através da coleta de uma amostra de sangue (15 ml). O sangue coletado será armazenado, para fins dessa pesquisa, e serão avaliados em conjunto com alguns dados coletados em consultas anteriores que fazem parte de uma outra pesquisa da qual você já participa, sobre a determinação do perfil da população de pacientes da ASCADIM. Os riscos envolvidos nessa pesquisa são: mal-estar passageiro ou mancha roxa no local da coleta de sangue. Seu nome será mantido em sigilo pelos pesquisadores do Laboratório de Neurociências (Neurolab), sendo estes dados utilizados apenas para esta pesquisa. Futuros exames poderão ser necessários para que os profissionais da saúde possam acompanhá-lo melhor.

Eu, _____, fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa de acordo com estas informações, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento (ou de meu familiar).

Fui informado que caso existam danos à minha pessoa ou saúde, causados diretamente pela pesquisa.

Assinatura do Paciente

Assinatura do Responsável pelo Paciente
(caso menor de idade)

Data: ____/____/____

Prof. Lisiane Tuon
Pesquisadora Responsável
(48) 3431-2759

APÊNDICE II
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA O GRUPO
CONTROLE

APÊNDICE II
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – GRUPO
CONTROLE

Esta é uma pesquisa que pretende analisar o dano celular que pode estar alterado nos indivíduos portadores de Distrofias Musculares Progressivas. Você será convidado a participar, dessa pesquisa, através da coleta de uma amostra de sangue (15 ml). O sangue coletado será armazenado, para fins dessa pesquisa, onde seu sangue será comparado com o sangue dos pacientes que possuem Doença Neuromuscular para futuramente auxiliar no tratamento destes. Os riscos envolvidos nessa pesquisa são: mal-estar passageiro ou mancha roxa no local da coleta de sangue. Seu nome será mantido em sigilo pelos pesquisadores do Laboratório de Neurociências (Neurolab), sendo estes dados utilizados apenas para esta pesquisa.

Eu, _____, fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa desta pesquisa, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação na pesquisa de acordo com estas informações, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento (ou de meu familiar).

Fui informado que caso existam danos à minha pessoa ou saúde, causados diretamente pela pesquisa.

Assinatura do Paciente

Assinatura do Responsável pelo Paciente
(caso menor de idade)

Data: ____ / ____ / ____

Prof. Lisiane Tuon
Pesquisadora Responsável
(48) 3431-2759

Capítulo II: Artigo Científico

ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) EM PORTADORES DE DISTROFIAS MUSCULARES PROGRESSIVAS

Juliana Meller¹, Gisiane Bareta de Mathia², Lisiane Tuon³

¹Acadêmica de Fisioterapia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.

²Laboratório de Epidemiologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.

³Grupo de Pesquisa Fisiopatologia Integrativa do Exercício, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.

Endereço para correspondência:

Profa. Lisiane Tuon, PhD - Grupo de Pesquisa Fisiopatologia Integrativa do Exercício, UNASAU, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brasil. E-mail: ltb@unesc.net

ANÁLISE DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) EM PORTADORES DE DISTROFIAS MUSCULARES PROGRESSIVAS

Resumo: As Distrofias Musculares Progressivas (DMP) são caracterizadas por degeneração progressiva e irreversível da musculatura esquelética, levando a uma fraqueza muscular e perda da capacidade motora. O Fator Neurotrófico do Cérebro (BDNF) é uma neurotrofina, a qual desempenha um importante papel nos processos de crescimento, diferenciação, sobrevivência e plasticidade neuronal. O presente estudo comparou os níveis de BDNF em 24 portadores de DMP com o grupo controle, através da coleta de 15 mL de sangue periférico. Os níveis de BDNF foram analisados pelo Kit Elisa e constatou-se que apenas a Distrofia Miotônica Tipo 1 apresentou alterações significativas ($p < 0,05$) quando comparados com os controles, demonstrando atividade que corroboram para uma plasticidade neuronal neste tipo de DMP.

Palavras-chaves: Distrofias Musculares Progressivas, BDNF, Plasticidade Neuronal.

INTRODUÇÃO

As Distrofias Musculares Progressivas (DMP) são doenças originadas por alterações genéticas, que se caracterizam por degeneração progressiva irreversível da musculatura [1, 2].

Mais de 30 formas de DMP já foram identificadas. Os aspectos clínicos destas doenças se diferenciam pelo mecanismo de herança genética, idade de início dos sintomas, velocidade de progressão e a musculatura envolvida [2,3].

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é a mais comum dentre os diversos tipos de DMP. Apresenta uma herança genética recessiva ligada ao cromossomo X e afeta, aproximadamente, 1/3600-6000 nascidos do sexo masculino [4]. O gene responsável pela DMD foi isolado e identificado em 1986, a proteína denominada distrofina, cuja ausência resulta em uma degradação constante das fibras musculares que provoca a perda progressiva da força muscular e das habilidades funcionais. Os portadores apresentam atraso no desenvolvimento motor normal e a maioria, nos primeiros anos de vida, é impossibilitado de correr e saltar devido à fraqueza muscular. Doenças respiratórias, ortopédicas, e complicações cardíacas (disfunção ventricular) aparecem e, sem intervenção adequada, a idade média de sobrevida é até a segunda década [5,6].

A Distrofia Miotônica (DM) é uma doença de herança autossômica dominante com manifestações clínicas variáveis [7].

A Distrofia Miotônica Tipo 1, ou de Steinert (DMS) resulta de uma expansão da repetição CTG na região 3' não traduzida do gene da proteína quinase MD (DMPK) sobre o cromossomo 19 [8]. É o tipo mais comum de DM, atingindo frequentemente adultos, estima-se que a cada 1:20000 habitantes a incidência é de 1:8000 nascimentos [9].

Os sinais e sintomas são multissistêmicos, em virtude do envolvimento dos músculos esqueléticos, por isso apresentam miotonia e fraqueza muscular, além de acometer olhos, coração, intestinos, sistema nervoso central, periférico e endócrino [10,11].

As Distrofias Musculares do tipo Cinturas (DMC) formam um grupo heterogêneo de doenças onde a fraqueza proximal das cinturas dos membros (cintura pélvica e escapular) e do tronco, são as principais características, além disso, não há comprometimento dos músculos da face ou da parte cognitiva [12]. A DMC classifica-se pelo mecanismo de herança, sendo que a herança autossômica dominante equivale a 10% dos casos, e a herança autossômica recessiva constitui 90% dos casos diagnosticados [13,14].

A doença pode se manifestar antes dos 10 anos de idade, no entanto os sintomas são mais comuns surgirem na 2ª ou 3ª década, atingindo ambos os sexos. Apesar de o quadro clínico ser muito semelhante ao da DMD, a progressão é extremamente variável, mas normalmente é mais lenta, de forma contínua ou insidiosa, isto é, com períodos de rápida progressão alternados com períodos estacionários [15].

O tratamento dessas doenças, através da Fisioterapia, visa, sobretudo, a prevenção das deformidades musculares e a diminuição da progressão do quadro clínico, principalmente das doenças e/ou complicações respiratórias [16].

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) faz parte da família das neurotrofinas, que são peptídeos encontrados no Sistema Nervoso Central (SNC), e são importantes nos processos de crescimento, diferenciação, sobrevivência e plasticidade neuronal [17, 18]. Além disso, as neurotrofinas têm outras funções no tecido muscular, incluindo a participação no desenvolvimento do músculo e na regeneração [19].

Um estudo realizado em modelo animal de DMD (mdx mouse), através da análise dos níveis de BDNF no córtex pré-frontal, cerebelo, hipocampo, estriado e córtex destes animais comparados com controles, constatou-se que apenas no estriado os níveis de BDNF estavam diminuídos em relação aos animais controles, sugerindo um papel do BDNF no armazenamento e restauração da memória [20].

O objetivo desse estudo é comparar os níveis de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) em portadores de Distrofias Musculares Progressivas com o grupo controle

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa é do tipo caso-controle e foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC sob o número 588/2007.

Inicialmente, foi composta por 29 casos de Doenças Neuromusculares. Destes 04 foram excluídos por possuírem diagnóstico médico de Atrofia Muscular Espinhal, não entrando no grupo das DMP, e 01 por ter sequelas de um Acidente Vascular Encefálico (AVE).

A amostra foi composta por 24 casos com diagnóstico médico de DMP e sem qualquer outro tipo de patologia neurológica conjunta. O grupo controle foi formado por 24 indivíduos voluntários sem doença neurológica prévia, pareados em relação aos indivíduos portadores da doença quanto a sexo e idade.

Todos os indivíduos que participaram da pesquisa foram esclarecidos quanto aos objetivos da mesma e antes da coleta assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram coletados 15 mL de sangue periférico por um técnico especializado no Complexo de Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, no caso dos pacientes acamados e moradores de outras cidades, a pesquisadora e o técnico responsável se deslocaram até a residência do mesmo para efetuar a coleta. O sangue foi armazenado em tubo de ensaio e devidamente identificado com o número do protocolo. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3000g por 5 minutos e o soro armazenado em freezer a -80°C, no Laboratório de Neurociências (NeuroLab) da UNESC.

A análise bioquímica do BDNF foi realizada por imunoenensaio (ELISA Sanduíche) através dos kits da Chemicon International e R&D Systems [21,22]. E a análise estatística dos dados foi feita através do programa estatístico SpSS 17.0 para Windows pelo test-t de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1 (1) os portadores de DMD apresentaram média de idade em anos de 17,86 ($DP \pm 2,41$) e 29% eram, de acordo com a funcionalidade expressa através do Índice de Barthel, Independente, 29% Muito dependente e 42% Totalmente Dependente. O grupo da DMC apresentou média de idade de 27,71 ($DP \pm 4,91$) e 86% eram Independentes e 14% Parcialmente Dependente. A média de idade dos portadores de DMS foi de 25,80 ($DP \pm 3,67$), sendo que 90% eram Independentes e 10% Sem independente.

O grupo controle da DMD apresentou média de idade em anos de 17,86 ($DP \pm 2,47$), da DMC de 27,71 ($DP \pm 4,98$) e da DMS 25,80 ($DP \pm 3,68$). Todos os participantes do grupo controle eram independentes segundo o Índice de Barthel.

A Figura 1 (2) mostra que o nível de BDNF dos portadores de DMD não houve diferença estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle ($p > 0,05$), porém há uma tendência ao aumento, os portadores de DMC também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), e apenas, na DMS os níveis de BDNF estavam aumentados quando comparados aos controles ($p < 0,05$).

Estudos demonstram que o BDNF tem uma importante função reguladora durante a diferenciação miogênica. O BDNF é produzido por neurônios motores e fibras musculares, e sua liberação pelo músculo esquelético é regulado pela atividade muscular. Além disso, o BDNF é expresso em células satélites, população de células musculares no músculo adulto, levantando a hipótese de que esta neurotrofina tem um papel na homeostase muscular [17].

O BDNF no sangue periférico pode ser avaliado no soro, pois atravessa a barreira hematoencefálica, e os seus níveis no soro tem uma alta correlação com o BDNF no líquido cefalorraquidiano [23,24]. Entretanto, as neurotrofinas também são expressas no músculo durante os processos do desenvolvimento e regeneração. Isto sugere que elas podem regular, em menor influência, estes processos, tanto em condições normais e/ou patológicas [17]. Consequentemente é impossível determinar que os níveis de BDNF

periféricos forneçam informações sobre as alterações desta neurotrofina no cérebro ou no músculo dos pacientes com Distrofias Musculares Progressivas.

Neste estudo apenas os portadores de DMS apresentaram alteração significativa nos níveis de BDNF, pois se acredita que a diminuição da proteína DMPK (*dystrophia myotonica protein kinase*) nestes indivíduos é responsável, em parte, pelas alterações multissistêmicas desta patologia. A função exata da DMPK ainda não é precisa, contudo esta é fundamental para a função normal dos músculos esquelético e cardíaco, comunicação intracelular e regulação da produção e função de estruturas de células musculares.

Além disso, os portadores de DMD não apresentaram diferença estatística, uma vez que estes pacientes fazem uso contínuo e controlado de corticoides, responsáveis, entre outras coisas, pelo retardo da velocidade da degeneração muscular, além do número da amostra ter sido pequena.

A carência de estudos relacionados a esse tema, torna a presente pesquisa de relevância, pois através desta e de futuros estudos pode-se compreender melhor a fisiopatologia das Distrofias Musculares Progressivas, visando traçar e adequar o melhor tratamento a estes pacientes.

CONCLUSÃO

Este estudo evidenciou que apenas nos portadores de DMS os níveis de BDNF estavam alterados demonstrando atividade que corroboram para uma plasticidade neuronal quando comparados com os controles.

REFERÊNCIAS

- [1] Brito MF, Moreira GA, Pradella-Hallinan M, Tufik S. Air stacking and chest compression increase peak cough flow in patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Bras Pneumol*. 2009; 35(10): 973-979.
- [2] Centro de Estudos do Genoma Humano. São Paulo, 2000. <<http://www.genoma.ib.usp.br>> Acesso em 27 de outubro de 2010.
- [3] Bischoff R, Engel AG, Franzini-Armstrong C, Myology. New York: McGraw-Hill. 1991.
- [4] Santos MAB, Costa FA, Travessa AF, *et al*. Distrofia Muscular de Duchenne: Análisis Electrocardiográfica de 131 Pacientes. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(5): 602-606.
- [5] Jansen M, Groot IJM, Van Afen N, Geurt ACH. Physical training in boys with Duchenne Muscular Dystrophy: the protocol of the No Use is Disuse study. *BMC Pediatrics*. 2010; 10-55.
- [6] Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, *et al*. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. 2010; (9).
- [7] Armendariz-Cuevas Y, Lopez-Pison J, Calvo-Martin MT, Rebage Moises V, Penã-Segura JP. Distrofia miotónica. Nuestra experiencia de 18 años en consulta de Neuropediatría. *An Pediatr(Barc)*.2010;72(2):133–138.
- [8] Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, *et al*. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member *Cell* 1992; 68: 799–808.
- [9] Phillips MF, Harper PS. Cardiac disease in myotonic dystrophy. *Cardiovasc Res*. 1997; 33: 13-22.
- [10] Schara U, Schoser BG. Myotonic dystrophies type 1 and 2: a summary on current aspects. *Semin Pediatr Neurol*. 2006; 13(2): 71-79.
- [11] Winblad S, Jensen C, Månsson JE, Samuelsson L, Lindberg C. Deseeaprchression in Myotonic Dystrophy type 1: clinical and neuronal correlates. *Behavioral and Brain Functions* 2010, 6:25.

- [12] Zatz M. A biologia molecular contribuindo para a compreensão e a prevenção das doenças hereditárias. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2002; 7(1): 85-99.
- [13] Schara U, Mortier W. Neuromuscular diseases 2: muscular dystrophies. *Nervenarzt*, v. 76, p. 238-9, 2005.
- [14] Torricelli RE. Actualización em Distrofias Musculares. *Revista de Neurologia*, v. 39, p.841-960, 2004.
- [15] El-Bohy AA, Wong BL. The diagnosis of muscular dystrophy. *Pediatr Ann*, v. 34, p.525-30, 2005
- [16] Santos GA, Caromano FA, Vainzof M, Zatz M. Caracterização da passagem da postura de bipedestação para a de sedestação no solo em crianças portadoras de Distrofia Muscular de Duchenne. *Rev. Ter. Ocup. Univ. São Paulo*, v. 13, n. 1, p. 31-36, 2002.
- [17] Barbacid M. Neurotrophic factors and their receptors. *Curr. Opin. Cell Biol.* Vol. 7 (1995), pp. 148-155.
- [18] Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, *et al.* Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry*. 2003; 54(1): 70-75.
- [19] Francesco A, Colantoni L. Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy: do neurotrophins play a role?. *Muscle Nerve*. 2009
- [20] Comim CM, Tuon L, Stertz L, Vainzof M, Kapczinski F, Quevedo JL. Striatum brain-derived neurotrophic factor levels are decreased in dystrophin-deficient mice. *Neuroscience Letters*. 2009; 459: 66–68.
- [21] Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, *et al.* Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neurosci. Lett.* 2006; 8: 215–219.
- [22] Frey BN, Andreazza AC, Ceresse KM, *et al.* Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania, *Life Sci*. 2006; 13: 281–286.
- [23] Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results

from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biol Psychiatry* 2005; 57(9): 1068-1072.

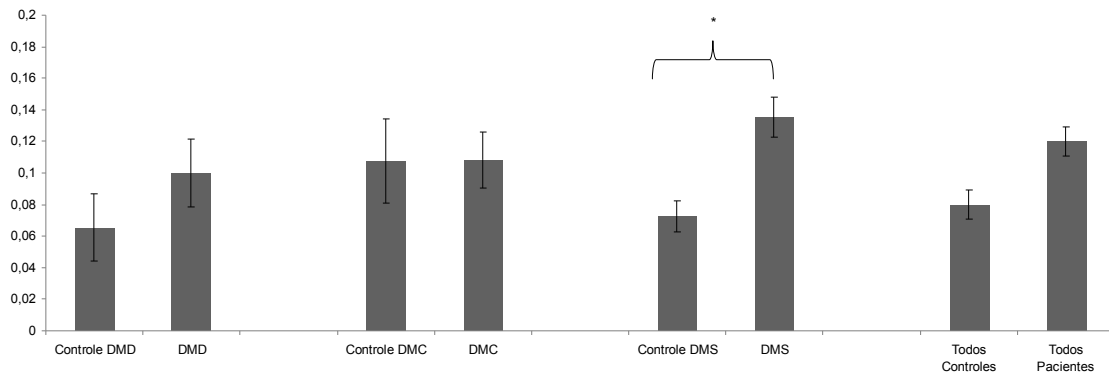
[24] Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology*. 1998; 37(12): 1553-1561.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 01 – Caracterização da amostra

VÁRIÁVEL	DUCHENNE	CONTROLE
Idade	17,86 (\pm 2,41)	17,86(\pm 2,47)
Gênero		
Masculino	7 (100%)	7 (100%)
Feminino		
Funcionalidade		
Independente	2 (29%)	7 (100%)
Semindependente		
Parcialmente Dependente		
Muito Dependente	2 (29%)	
Totalmente Dependente	3 (42%)	
	CINTURAS	CONTROLE
Idade	27,71 (\pm 4,91)	27,71 (\pm 4,98)
Gênero		
Masculino	2 (29%)	2 (29%)
Feminino	5 (71%)	5 (71%)
Funcionalidade		
Independente	6 (86%)	7(100%)
Semindependente		
Parcialmente Dependente	1 (14%)	
Muito Dependente		
Totalmente Dependente		
	STEINERT	CONTROLE
Idade	25,80 (\pm 3,67)	25,80 (\pm 3,68)
Gênero		
Masculino	4 (40%)	4 (40%)
Feminino	6 (60%)	6 (60%)
Funcionalidade		
Independente	9 (90%)	10 (100%)
Semindependente	1 (10%)	
Parcialmente Dependente		
Muito Dependente		
Totalmente Dependente		

Figura 01 – Níveis de BDNF nos portadores de Distrofias Musculares Progressivas comparados com o grupo controle



Capítulo III: Normas da Revista

Neuromuscular Disorders

Official Journal of the [World Muscle Society](#)

Guide for Authors

Official Journal of the **World Muscle Society**

Instructions to authors

Electronic submission via the Web using EES.

The preferred method of submission for all categories of manuscript is online to the Editorial Office. The preferred medium of submission to the accepting Editor is online with the accompanying manuscript, illustrations, tables and annexes. Submission of a paper to Neuromuscular Disorders is understood to imply that it has not previously been published (except in abstract form) and that it is not being published elsewhere. Submitted manuscripts should be accompanied by a statement undersigned by all listed authors that they concur with the submission and that the manuscript has been approved by the responsible authorities where the work was carried out. If accepted, the manuscript shall not be published elsewhere in the same form in either the same or any other language, without the consent of the Editor and Publisher. The decision of the Editor is final.

Neuromuscular Disorders uses an online, electronic submission system called EES (Elsevier Editorial System). By accessing the following website <http://ees.elsevier.com/nmd> you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. When submitting a manuscript to EES, authors need to provide an electronic version of their manuscript. The author should select a category designation for their manuscript (original article, letter to the editor, short communication, etc.) and may provide keywords and comments to the Editor separately. Authors may send queries concerning the submission process, manuscript status, or journal procedures to the Editorial Office (j.miller@ich.ucl.ac.uk). Once the

uploading is done, the system automatically generates an electronic (PDF) proof, which is then used for reviewing. All correspondence, including the Editor's decision and request for revisions, will be by e-mail.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>

Hardcopy manuscript submission

If online submission is not a feasible option, manuscripts may still be sent in triplicate with one disk copy to the Editor-in-Chief.

Manuscripts should be accompanied by a covering letter including the name and address of the author to whom correspondence should be sent. Authors should retain an additional copy of the manuscript and figures for their own files. After final acceptance, your disk plus two, final and exactly matching printed versions should be submitted together. Double density (DD) or High density (HD) diskettes (3.5 or 5.25 inch) are acceptable. It is important that the file saved is in the native format of the wordprocessor program used. Label the disk with the name of the computer and wordprocessing package used, your name, and the name of the file on the disk. Further information may be obtained from the publisher.

E-mail submission

Manuscripts containing no more than two figures may be sent to the Editorial Office (j.miller@ich.ucl.ac.uk) by email only, with a covering note, subject to prior agreement from the Editorial Office.

Manuscript Preparation

The journal has a zero tolerance for non-standard abbreviations and these should be avoided in the abstract and also in the text. Use double spacing throughout, including the reference section.

Organize the manuscript in the order indicated below, with each component beginning on a separate page and with a running title and page number typed in the upper right-hand corner of each page.

Title Page

Page 1 should include:

- (a) the title of the article
- (b) the authors' names
- (c) affiliations (the name of the department, if any, institution, city and state or country where the work was done) indicating which authors are associated with which affiliations
- (d) the name and address of the author to whom proofs and reprint requests are to be sent.

Abstract

Page 2 should include the title of the article followed by the abstract, which should have no more than 150 words of continuous text; **ie please do not insert subheadings**. The abstract should state the purpose of the study, basic procedures, most important findings and principal conclusions, with an emphasis on the new aspects of the study. All non-standard abbreviations should be avoided in the abstract and only introduced in the main text. Keywords for indexing should be given at the end of the abstract.

Text

Papers should be organized in the following format: Introduction, Materials (or Patients) and Methods, Results and Discussion. Other descriptive headings and sub-headings may be used if appropriate. Every effort should be made to avoid jargon and non-standard

abbreviations. Contents of the study should be presented as clearly and as concisely as possible. Manuscripts containing English or American spelling are acceptable. Be sure that all references are cited in numerical order in the text and that all tables and figures cited in the text are numbered according to the order in which they appear. Data appearing in the tables or figures should be summarized, not duplicated, in the text. All data cited in the text should be checked carefully against the data in the tables to ensure that they correspond, and all the names cited in the text should be checked carefully against the references. Any ambiguous symbols (e.g. the letter 'O' vs the numeral '0', the letter 'l' vs the numeral '1') should be identified. Unnecessary abbreviations should be avoided. At his discretion the Editor-in-Chief will convert any such abbreviations into their unabbreviated form in order to maintain the flow and sense of the text. Acknowledgements of grant support and of individuals who were of direct help in the preparation of the study should be included at the end of the text. Any experimental work on human subjects should be accompanied by a statement relating to appropriate ethical approval.

At the beginning there should be a title page which provides a title and **addresses for all of the authors** as they should appear in the publication and full **contact details for the corresponding author** (address with postal codes and countries, phone, fax and e-mail).

References

Type references double spaced and number them consecutively in the order in which they are first mentioned in the text, not alphabetically. Identify references in the text, tables, and legends by Arabic numerals within square brackets. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with a sequence established by the first mention in the text of a particular table or figure. The authors are responsible for the accuracy and completeness of the references. For journal articles the following information should be included: (a) for up to and including six authors, all author names (surnames followed by initials), and for more than six authors, only the first three authors' names (surnames followed by initials) followed by et al., (b) title of the article, (c) the journal title which may be

abbreviated according to the rules set out in Index Medicus, (d) the year of publication, (e) the volume number and (f) the first and last page numbers. If the article is published in a language other than English the title should be translated into English and followed by the original language in brackets, for instance "(in Swedish)". For books, include the chapter title, chapter authors, editors of the book, title of the book (including volume and edition number), publisher's location and name, year of publication and appropriate page numbers.

Examples of the correct format are as follows:

[1] Ervasti JM, Ohlendieck K, Kahl SD, Gaver MG, Campbell KP.

Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. Nature 1990; 345: 315-319.

[2] Dubowitz V. A Colour Atlas of Muscle Disorders in Childhood.

London: Wolfe Medical Publications, 1989.

[3] Williamson R. Molecular biology in relation to medical genetics.

In: Emery A E H, ed. Principles and Practice of Medical Genetics.

Edinburgh: Churchill Livingstone, 1983: 16-25.

"Unpublished observations" and "personal communications" should not appear in the references. These should be inserted in parentheses in the text, and letters of permission from all individuals cited in this way should accompany the manuscript. Information obtained from manuscripts that have been submitted for publication but not yet accepted should be cited in the references: include authors and manuscript title followed by "submitted for publication". Manuscripts that have been accepted for publication but have not yet been published may appear in the references: include the authors, manuscript title, and name of the journal followed by "(in press)".

Tables

Tables should be submitted online as a separate file and should bear a short descriptive title. In case of hardcopy, tables should be submitted on separate sheets of paper. If a table must

exceed one typewritten page, duplicate all headings on the second sheet. Number tables in the order in which they are cited in the text. Every column in the table should have an abbreviated heading. Define all abbreviations and indicate the units of measurements for all values. Explain all empty spaces or dashes. Indicate footnotes to the table with the superscript symbols cited in order as you read the table horizontally. Unless tables are unavoidably wide, please present them in portrait format with adequate left and right-hand margins to ensure they do not default to landscape presentation at the typesetters.

Figures

Figures of good quality should be submitted online as a separate file. Letters, numbers and symbols should be clear throughout and should be large to permit photographic reduction. If a figure cannot be submitted online, a hardcopy may be submitted in professionally drawn, photograph or high-quality laser printed form. Be sure that all spelling is correct, that there are no broken letters or uneven type, and that abbreviations used are consistent with those in the text. Use a label on the back of each figure to indicate the article's running title and the top of the figure. Do not write directly on the back of photographs. Do not trim, mount, clip or staple the illustrations. Submit photomicrographs in the final desired size. The colour transparency or negative should be supplied, in addition to colour prints. Photographs of recognizable persons should be accompanied by a signed release from the patient or legal guardian authorizing publication. Masking eyes to hide identity is not sufficient.

Colour Reproduction

For colour reproduction in print, a limited number of colour figures may be printed in the Journal without cost, at the discretion of the Editor, who will make the judgement based on the academic necessity of the colour illustrations. Otherwise you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. For further information on the preparation of the electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/locate/authorartwork>

Figure and Table Legends

Legends should be typed double spaced on a separate page and numbered with Arabic numerals corresponding to the illustrations. When symbols, arrows, numbers or letters are used to identify parts of the illustrations, each should be explained clearly in the legend. The legends should permit the figures to be understood with reference to the text. If the figure has been published previously a credit line should be included.

Preparation of Supplementary Material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting figures, tables, applications, high-resolution images, background datasets, movies, animation sequences, sound clips, videos and more.

NB: Please contact the Editorial Office and discuss before attempting to submit sound or video files.

Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect <http://www.sciencedirect.com> in order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Contact the Editorial Office prior to submission.

Section Editor Categories

In addition to submitting regular original articles, letters and meeting reports, we invite readers to submit interesting articles to the special sections listed below. All items should be submitted online in the usual way to the main Editorial Office in London, with the relevant section category selected from the drop-down menu. If you wish to discuss anything with section editors prior to submission please refer to the journal homepage online or the inside front cover of the printed journal for up-to-date contact information of each section editor.

Reviews

Review papers should cover recent, important developments related to diagnosis, pathogenesis or therapy of a neuromuscular disorder. They can be either in-depth and comprehensive, or short, mini-reviews. Please include an abstract and key words. Reviews will be directed to Anders Oldfors who will co-ordinate peer review.

Case Reports

Case reports should not exceed 2000 words and may include up to three tables or figures and a maximum of 25 references. They should take the form of Title, Abstract (up to 100 words), Introduction, Case Report, Discussion, Acknowledgements and References. Case reports will be directed to Luciano Merlini who will co-ordinate the editorial process.

Animal Models for Neuromuscular Diseases

Gillian Butler-Browne will be allocated papers submitted under this section.

Veterinary Myology

Diane Shelton will be pleased to receive papers covering clinical or investigative aspects of spontaneously occurring myopathies, neuropathies or disorders of neuromuscular transmission in domestic animals.

Picture of the Month

Please send an interesting clinical photograph, histopathological or radiological image or any other pictorial material of clinical challenge or interest, accompanied by a brief case presentation and discussion of no more than 750 words and up to three references. These items will be referred to Beril Talim for the editorial process.

What the Journals Say

For this section we invite concise and critical commentaries (around 250 words) about any relevant articles on the treatment of neuromuscular disorders, good, bad, or indifferent, published in other current journals. Please submit online and select this category from the drop-down menu and we will refer your article to Allan Bretag.

Clinical Casebook

Victor Dubowitz invites short case reports that present a conflict of interpretation between the clinical and the investigative aspects of a case, with a view to raising questions, promoting thinking and discussion and potentially opening new channels of research to advance our knowledge.

Historical Reports

We welcome articles of historical interest. These can be sent to the editorial office in the first instance and will be redirected to the Historical Section Editor, Alan Emery.

ENMC Workshop Reports

These submissions will be treated as report on a workshop, with the convenor[s] listed as corresponding author[s]. They will not be subjected to peer review and will be published in the next available issue of the journal. The format should be that of a workshop report and not a review of the particular subject. Under exceptional circumstances as, for example, with the "myocluster" research groups funded by the EU, where a lot of new [unpublished] material was presented, special arrangements were agreed at the time, as listed in the following set of guidelines. The editor of NMD is prepared to follow the same guidelines in special cases, as listed in section 4 below, but the corresponding author will need to provide an accompanying letter justifying the special circumstances and listing the specific new, unpublished contributions of the selected "authors".

Here follow the ENMC workshop Reports **guidelines**:

1. The basic format of the ENMC based workshop reports will be the same as in the past with a TITLE reflecting the number of the ENMC workshop, the number if appropriate of the topic workshop and the location and date
2. A full list of all PARTICIPANTS will be included at the end of the report, with their city and country. This list will also include any ENMC representative [K. Busby or her representative] as appropriate with [ENMC] after their name.
3. Full ACKNOWLEDGEMENT will be given to ENMC and all its sponsoring organisations at the end of the report using the exact wording as requested by ENMC as one of the conditions in their original letter of acceptance of the workshop.
4. In addition to the reporter [s]/ convenor [s] of the workshop, who alone were listed in the past as "AUTHORS" of the report, it has been agreed that any participants of the workshop who have presented new and unpublished scientific data at the workshop can also be included as "authors" of the report. The selection of these additional persons will be entirely at the discretion of the workshop convenors whose decision will be final. It is anticipated that in general there would probably be no more than 5 or 6 authors in total to these reports, but under special circumstances when there was much new development in relation to a particular disorder, a total of up to a maximum of 10 authors would be accepted by the Journal. In future the list of authors will be included on the first page of the report, under the title, with a similar format to the original papers in the journal. A full but preferably brief address can be included for each author, and the corresponding author for proofs and reprints should also be indicated.
5. As in the past, these reports will not be subjected to any peer review and it will be assumed that the content has the approval of all participants of the workshop. Once received the report will be given priority publication in the next available issue of the journal.
6. Keywords can be provided for reference

English language help service: Upon request, Elsevier will direct authors to an agent who can check and improve the English of their paper vvv (before submission). Please contact support@elsevier.com for further information.

Page Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding Author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

E-offprints: Option for PDF or Paper

Offprints. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 50 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Preparation of Supplementary Material. Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting figures, tables, applications, high-resolution images, background datasets, movies, animation sequences, sound clips, videos and more. NB Please contact the Editorial Office and discuss

before attempting to submit sound or video files. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect (<http://www.sciencedirect.com>). In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data is provided in one of our recommended file formats. Contact the Editorial Office prior to submission.